DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.05.006

大鼠甲状腺C细胞在肠型放射病中的变化

邓晓林 蔡文琴 （组胚教研室）

提 要 本文利用^{60}CoγX-射线20Gy对大鼠行全身性1次性照射，复制肠型放射病模型。应用免疫细胞化学、免疫电镜和显微分光光度计（MSP）测量等技术，对大鼠甲状腺C细胞在肠型放射病（AIRS）中的变化进行了观察。结果表明，C细胞的变化可分为两个时期，照射后24h以内为第1时期，此时C细胞病变不明显，而血清钙值较正常组明显下降（$P<0.01$），提示此时C细胞合成和分泌CT的功能可能增强。照射后第24h到第72h为第2时期，以MSP在降钙素（Calcitonin，CT）免疫染色切片上测量，所得的总吸光度值（TA）较正常组降低，电镜下C细胞逐渐出现破坏性变化。以上结果表明，C细胞作为APUD系统的组成成份，无疑参与了AIRS的病理变化，本文亦对其可能的病变机制作了讨论。

关键词 甲状腺；降钙素；急性肠型放射病

C细胞作为具有重要内分泌功能的APUD系统细胞，它在AIRS中变化如何；CT作为具有调节血钙、胃肠道激素以及抗应激[1][2][3]等多种功能的内分泌多肽在AIRS病理变化中是否起作用？起什么作用？作者尚未见国内外文献报道。因此本文试图利用多种方法观察C细胞及CT在AIRS中的变化，并对其可能的机制进行了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组

取雄性Sprague-Dawley纯系大白鼠72只，体重为200±20g。各组实验动物分组详见表1。根据本校

表1 AIRS实验动物分组

	对照组	照射组		
		24h	48h	72h
*免疫组化组	8	8	8	8
△电镜组	8	8	8	8
免疫电镜组	4		4	

*本组动物亦用于抽血测血钙。 △厚片HE染色后用于光镜下观察。

防原教研室大鼠肠型放射病模型，用^{60}CoγX射线20Gy，对大鼠行全身性1次性照射，照射量率为0.667Gy/min（150cm×30′），复制AIRS模型。

1.2 免疫组化方法

动物麻醉后，经左心室采血3ml～5ml用于血钙测定，用Zomboni液经左心室灌注固定。分离出甲状腺，常规石蜡包埋切片，切片厚6μm。标本按Sternberger[4]的PAP法进行染色。

非特异性对照实验，用吸收实验和替代实验按上述方法染色标本[5]。结果为阴性。

1.3 血钙测定

采得的血液于室温下放置约12h，吸出血清。应用美国IL-951型原子吸收光谱仪测定血清钙。

1.4 MSP测定免疫组化染色切片

应用Leitz MSP测定。扫描范围：22×22。每只动物测定3张切片，每张切片测定40个区域，4个时相

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

点共测定3840个区域。

1.5 常规电镜技术

采用Ekholm和Ericson的方法灌注固定[6]，取出甲状腺，常规包埋，半薄切片2μm HE染色定位及光镜下观察，LkBV型切片机作超薄切片，H-300型电镜观察。

1.6 免疫电镜技术

大鼠取材固定，用Leitz冰冻切片机切片50μm。按Sternberger方法染色，显色后常规电镜包埋，半薄切片定位后切超薄切片，柠檬酸铅染色，H-300型电镜观察。对照实验采用同免疫组化方法的置换实验及吸收实验。

2 结　果

2.1 半薄切片HE染色观察所见

半薄切片上C细胞一般比滤泡细胞大，位于滤泡旁或滤泡间，为圆形、卵圆形、长梭形或多边形。胞质和胞核均较滤泡细胞浅。照射后24h，C细胞变化不明显；照射后48h、72h可见部分C细胞肿胀，胞浆空泡变性。

2.2 免疫染色观察所见及MSP测定

正常C细胞胞浆染成棕黄色，胞核不着色，细胞形态及胞核的轮廓均很清晰（图1）。照射后24h C细胞无明显变化；照射后48h、72h可见部分C细胞胞浆染色深浅不均，较大区域染色变浅甚至不着色。导致细胞形态和核的轮廓不清晰，细胞排列紊乱（图2）。

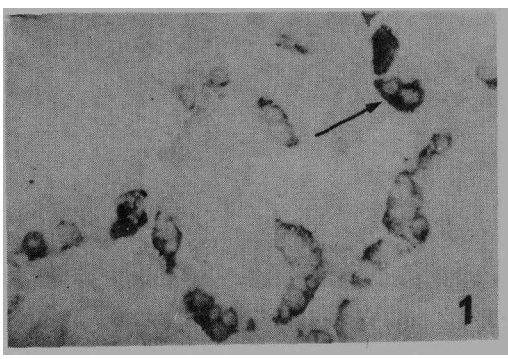


图1　正常大鼠甲状腺C细胞CT免疫染色，细胞形态及胞核轮廓均很清晰。PAP法　×400

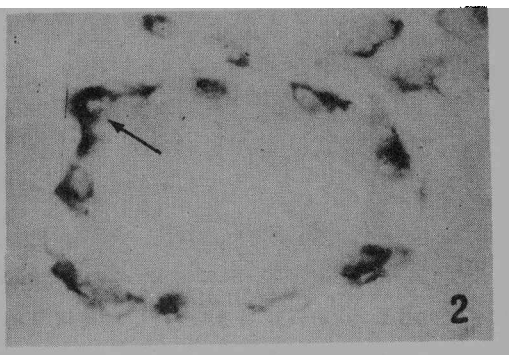


图2　20GY γ-射线照射后72h，C细胞CT免疫染色，部分C细胞染色深浅不均，细胞形态及胞核轮廓不清。PAP法　×400

各组动物甲状腺组织切片免疫染色后，MSP测得的TA值如表2。统计处理表明：照射后24h组与正常组TA值无显著性差别（$P>0.05$），照射后48h组及72h组比正常组TA值明显降低（$P<0.01$）。

2.3 血清钙测定结果

血清钙测定结果见表2。统计处理表明：照后24h血钙值比正常值显著下降（$P<0.01$），照后48h血钙值与正常组无显著差别（$P>0.05$），照后72h组血钙值较正常组显著升高（$P<0.01$）。

表2　MSP及血钙测定结果（$\bar{X}\pm1SE$）

组　别	正　常　组	照后24h	照后48h	照后72h
MSP测定值	115.6±7.6	114.5±8.5	95.4±6.4	92.7±6.7
血钙值(mg%)	10.51±0.36	8.95±1.12	10.58±0.76	12.23±0.68

2.4 常规电镜观察所见

正常大鼠C细胞胞浆内含有许多直径为100nm～200nm的圆形膜被颗粒，粗面内质网扁平囊泡狭窄排

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

列紧密，线粒体丰富，嵴排列不规则（图3）。

照射后24h，C细胞中仅见部分线粒体肿胀；分泌颗粒无明显增减。照射后48h，线粒体肿胀加剧；高尔基氏器囊泡扩张；粗面内质网扁平囊泡扩张且有脱颗粒；膜被颗粒数目减少；核周池增宽，核外膜向胞质成指套状突出，还可见细胞器内异物及髓鞘样结构形成（图4、5）。照射后72h还可见细胞膜破裂和缺损（图6）。但未见核的固缩和溶解。

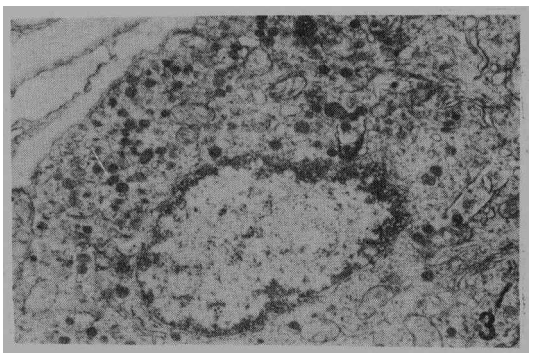


图3　正常C细胞，胞质内含有丰富的致密核心的膜包分泌颗粒。　×5 000

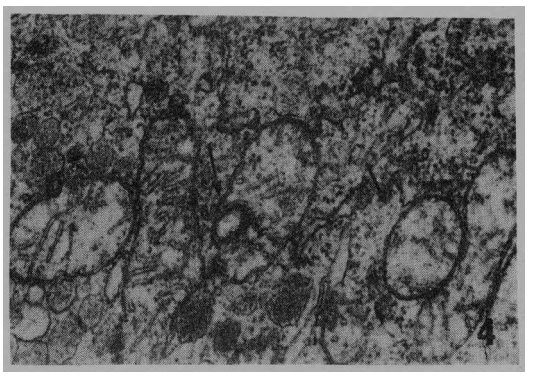


图4　20GY γ-射线照射后48h，C细胞线粒体肿胀，内见异物。×15 000

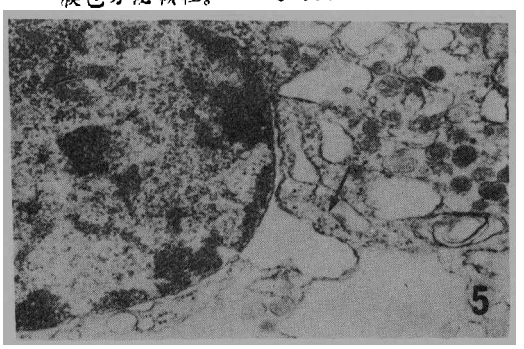


图5　20GY γ-射线照射后48h，C细胞核周池间隙增宽。×15 000

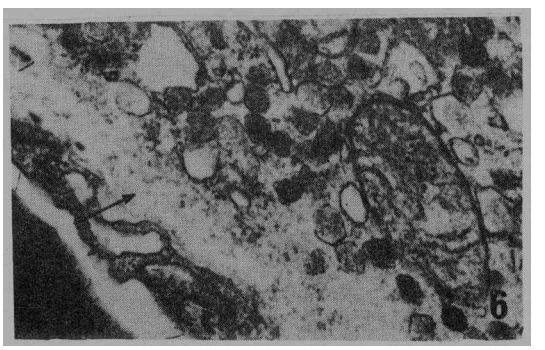


图6　20GY γ-射线照射后72h，血管旁C细胞胞膜破坏，分泌颗粒及线粒体裸露。×15 000

2.5　免疫电镜观察所见

免疫电镜显示：C细胞分泌颗粒内有嗜锇性高电子密度的免疫复合物沉积（图7）。照射后48h免疫电镜显示C细胞分泌颗粒内沉积物明显减少，电子密度亦减低（图8）。对照实验组其C细胞分泌颗粒内无沉淀复合物。

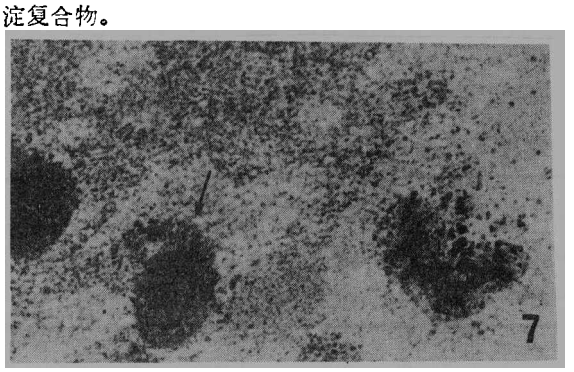


图7　免疫电镜显示正常大鼠C细胞分泌颗粒内有CT免疫反应复合物沉积。　×50 000

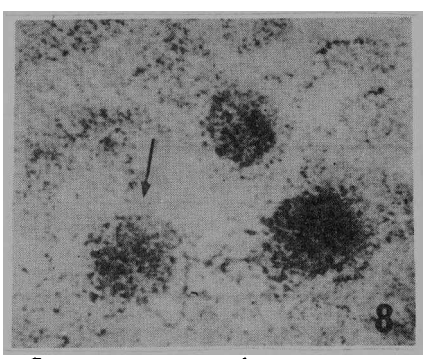


图8　20GYγ-射线照射后48h，免疫电镜显示C细胞分泌颗粒中的CT免疫反应复合物数目减少，密度降低。　×50 000

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3 讨 论

作者认为：大鼠C细胞在AIRS中变化可分为两个阶段，照射后24h以内为第1阶段亦可称为功能增强期；照射后24h到72h为第2阶段，亦可称为C细胞破坏期。

照射后24h，C细胞破坏征象较少见，电镜下亦未见明显的分泌颗粒增加，MSP测定的TA值与正常组无显著性差别；而血清钙明显下降，提示此期C细胞合成和分泌功能可能均有增强。至于此期C细胞细胞器是否有数量上改变，还需进一步作立体计量学测量。

程天民[7]、郭鹤[8]等在研究急性放射病时发现，照射后早期垂体、肾上腺、甲状腺功能增强，血中T_3、T_4和游离糖皮质激素升高，这些激素和其它因素可能参与了增强C细胞功能[1]，促进C细胞合成和分泌CT。目前研究发现CT不仅能降低血钙，它还有许多重要功能：①CT有明显的镇痛作用，以摩尔计算，CT的镇痛效果是吗啡的100倍[3][9][10]；②抑制胃泌素、胃酸分泌，保护胃、十二指肠粘膜[1][2]。有资料表明：在溶血、心肌梗塞以及创伤等应激情况下，血钙降低，血中CT明显升高参与抗应激作用[3]。在AIRS早期，CT是否发挥这些作用值得进一步的实验研究。

照射后24h到72h，C细胞逐渐出现破坏性变化，C细胞结构破坏CT产生减少，且细胞膜破裂分泌颗粒丢失以及分泌颗粒的不断排出，导致细胞中CT减少，因而免疫电镜显示分泌颗粒中的嗜锇性沉积物数目减少、电子密度降低；免疫染色显示C细胞染色变浅和细胞内染色区域减少，MSP测定的TA值显著降低。

照射后24h，血钙逐渐回升，到照射后72h血钙明显高于正常值。AIRS作为1种全身性病变，病情复杂，C细胞破坏，CT产生和分泌不足可能与血钙升高密切相关，但还可能有其它因素对血钙产生影响，如照后肠上皮坏死脱落，通透性增强，液体成份大量渗出导致血液浓缩等[11][12]。

电镜观察还发现，C细胞病变以膜的病变为主，胞核病变相对不明显。根据C细胞病变的进程和特点可知：C细胞对射线的敏感性类似神经细胞[7][8]，而比肠道上皮细胞及肠道某些含肽内分泌细胞弱[11][12]。

参 考 文 献

1. Queener SF and Bell NH. Calcitonin:A general survey. Metabolism 1975; 24:555～567
2. Austain LA and Heath H. Calcitonin. New England J Med 1981; 304:260～278
3. Duquy B. Antistress effects of calcitonin. Biomedicine & Pharmacotherapy 1983; 37:54～57
4. Sternberger LA. Immunocytochemistry. ed3.New York:John Wilney and Songs 1986; 103～146
5. 蔡文琴，王伯纶，等。实用免疫细胞化学。第一版。四川科技出版社，1988
6. Ekholm R & Ericson LE. The ultrastructure of the parafollicular cells of the thyroid gland in the rat. J Ultrastructure Research 1968; 23:378～402
7. 程天民，等。防原医学。第一版。上海科学技术出版社，1986
8. 郭鹤，等。放射损伤病理学。第一版。人民卫生出版社，1987
9. Mirlles FS, et al. Postoperative analgesia induced by subarchnoid lidocaine plus CT. Anesth Analg 1987; 66:615～8
10. Szanto J,et al. Pain killing with CT in patients with malignant tumours. Oncology 1986; 43:69～72
11. 王正品，蔡文琴。大鼠肠型放射病中小肠VIP，SP，L-ENK和SOM的改变。解剖学报 1989，20(Suppl):59～65

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

12. 吴康，蔡文琴。大鼠小肠降钙素基因相关肽在肠型放射病时的变化。第三军医大学学报 1990；12（2）：89～93

（收稿：1989.11.25；修回：1990.07.20）

The Changes of Rat Thyroid Gland C Cells in Acute Intestinal Radiation Sickness (AIRS)

Deng Xiaolin and Cai Wenqin (Department of Histology and Embryology, Third Military Medical College)

The rats were exposed to 20Gy of X-ray one time systemically to imitate the model of AIRS. By using immunocytochemistry, immunoelectromicroscopy and microspectrophotometry (MSP) technique, the changes of rat thyroid gland C cells in AIRS were investigated. The results show that, the changes of C cells could be divided into two phases. In the first phase (the first 24 h after irradiation), no obvious morphological change could be observed, whereas the concentration of serum calcium (CSC) dropped remarkably. It seems that the synthesis and secretion of calcitonin (CT) within C cells might increase during this period. The second phase is from 24th h to 72th h after irradiation, the TA (total absorbance) measured by MSP reduced, and the ultrastructural pictures showed progressive destructive changes. All these findings suggest that: The C cells of rat thyroid gland, as a kind of APUD system cell, is no doubt involved in the AIRS pathological changes. The possible pathogenic mechanism was briefly discussed.

Key words: thyroid gland; calcitonin; acute intestinal radiation sickness

---

（上接387页）

玩耍，不慎将铁钉滑入，致憋气数秒钟后剧烈呛咳，呈阵发性，无痰，约晚9点后咳嗽减轻，于12月20日来我院胸片示气管支气管异物收入院。

入院检查 轻度鼻翼扇动，哭闹时有轻度呼吸困难，无明显紫绀现象，“三凹”体征不明显，右肺呼吸音低，未闻及湿性罗音。胸片示：铁钉位于气管内，尖向上，下端已进入右支气管。12月21日在全麻下行支气管镜检查，在直接喉镜引导下插入4.5mm支气管镜。在隆突上部发现铁钉尖部，铁钉一端已进入右支气管，用异物钳夹持随同支气管镜一同取出一枚5cm长已锈蚀铁钉，12月23日全愈出院。

（收稿1990.04.23；修回：1990.04.31）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net